

PROBLEMA BIOQUÍMICO

Juan Carlos Gallardo-Pérez y Sara Rodríguez-Enríquez
Departamento de Bioquímica. Instituto Nacional de Cardiología.
Correo E: jcgallardo@ciencias.unam.mx, rodsar@cardiologia.org.mx

Ciclo Celular y Apoptosis

El ciclo celular involucra una secuencia ordenada de eventos que incluye la duplicación del contenido y la división celular. El ciclo celular ocurre a través de 4 distintas fases: G_1 , S, G_2 y M (1). En la fase G_1 , las células aumentan su volumen intracelular y la síntesis de proteínas como las DNA helicasas, primasas y polimerasas involucradas en la síntesis del DNA, así como factores de transcripción y componentes de la maquinaria de traducción de proteínas involucradas en el metabolismo general de la célula. La fase S implica la duplicación del material genético, mientras que la fase G_2 se caracteriza por un aumento en el tamaño celular y en la síntesis proteica continua. Finalmente en la fase M, la célula reparte los cromosomas duplicados dando lugar a dos células hijas.

La citometría de flujo es una herramienta útil que permite el análisis del curso del ciclo celular y aporta evidencia del efecto de ciertos compuestos que inducen muerte celular (2). En esta técnica, las células previamente fijadas con etanol al 70%, se permeabilizan y se exponen al ioduro de propidio (IP) un indicador fluorescente que se intercala y reacciona con el DNA celular. Por lo tanto, una célula en estado G_1 emitirá menor fluorescencia del IP que una célula en fase S. Lo anterior puede analizarse utilizando los histogramas obtenidos del citómetro de flujo.

La figura 1A muestra un histograma general donde se observan las distintas fases del ciclo celular del tumor mamario T47-D, incubado con IP para registrar la fluorescencia emitida desde la superficie celular. Cuando el haz de luz del citómetro incide sobre las células, la fluorescencia emitida es proporcional a su tamaño celular (o superficie celular). Por lo tanto, la intensidad de fluorescencia (FL2A= Forward-scattered Light 2 Area) se grafica contra el número de células analizadas. El valor de 100 cuentas en el eje y, representa 10,000 células analizadas. El ciclo celular se analiza con un "software" (Cell Queso Pro v 4.0.2; Becton-Dickinson, New Jersey) que proporciona el porcentaje de células que se encuentran en cada fase o estadio celular. Para la figura 1A, el 70 %

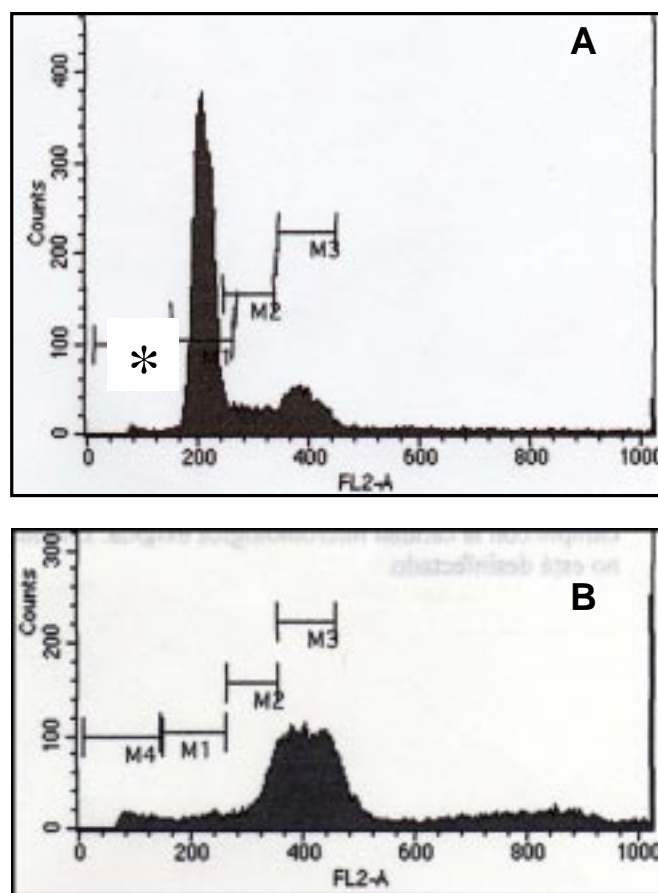


Fig. 1. Células TD-47 (1×10^5 cells/ml) se cultivaron en ausencia (A) y en presencia (B) del compuesto X. La citometría de flujo se realizó 72 h después de la exposición al compuesto X. Abreviaciones: M1, G_0/G_1 ; M2, S; M3, G_2/M .

de la población celular se encuentra en fase G_0/G_1 (M1), mientras que el 10 y 20 % se encuentra en la fase S (M2) y G_2/M (M3), respectivamente.

El empleo de esta técnica permite la identificación y clasificación de poblaciones celulares en tejidos heterogéneos (sangre) aplicando el marcador de superficie correcto. También es útil para determinar específicamente el mecanismo de acción de diversos compuestos (antineoplásicos, antiinflamatorios no esteroideos, antihistamínicos) sobre cada fase del ciclo celular.

Analice el experimento de la figura 1B y responda lo siguiente:

1. ¿Cuál es el efecto del compuesto X sobre las diferentes fases del ciclo celular?
2. ¿Cuál puede ser la naturaleza del compuesto X?

REFERENCIAS

1. Massague J. 2004. G1 cell cycle control and cancer. *Nature* 432, 298-306.
2. Darzinkiewics Z, Huang X, Okafuji M. 2006. Detection of DNA strand breaks by flow and laser scanning cytometry in studies of apoptosis and cell proliferation (DNA replication). *Methods Mol Biol* 314, 81-93.